الخلاصة

تأثير الأجسام المضادة المفرزة في حليب الجمال المحصنة مناعياً على إصابة فئران التجارب ببكتيريا السالمونيلا تايفميوريوم

الإعداد

إقبال محمد القطناني

إشراف

د.خالد محمود القاعود (مشرفا رئيسا)

تمتلك الجمال خاصيه فريدة في عالم المناعة حيث ينتج جهازها المناعي بالإضافه الى النوع التقليدي نوع جديد من الأجسام المضادة مختلف. حيث تفتقد هـذه الأجسـام المضـادة السلسله الخفيفه بالإضافه إلى المقطع الثابت الأول المهم في الإرتباط مع السلسلة الثقيله لـذلك تدعى الأجسام المضادة ثقيلة السلسله HCAb .ومع ذلك لا تفقد فعاليتها وتمتلـك خصـائص أفضل تؤهلها للعب دور بارز و فعال أكبر وتبقيها قادرة على تميز الجزئ المحفـز للجهـاز المناعي والإرتباط به. فهذه الأجسام المضاده أصغر في الحجم وتمتلك في نفس الوقت ثبـات أعلى فهي مقاومة للحرارة و درجات الحموضة المتطرفة وتحتفظ بثباتها في الجهاز الهضمي مما يجعلها مناسبه كمصدر للمناعه السلبيه المعطاة عن طريق الفم.

هدفت هذه الدراسة إلى تقيم مقدرة هذه الأجسام المفرزة من قبل الناقة في الحليب في حمايـة الفئران من نوع BALB/c من الإصابة بالسالونيلا عن طريق إعطائها بالفم. وقد تم إثبـات الإستجابه المناعية للناقة بعد تلقيحها بلقاح متوفر تجاريا يحتوي على السالمونيلا بواسـطة ال ELISA . وقد تم إجراء تجربتين متماثلتين, تختلفان فقط بتركيز الأجسام المضادة. حيث تـم إعطاء الفئران المصابه بالسالمونيلا في التجربه الثانية 3 أضعاف التركيـز المسـتخدم فـي التجربه الأولى. وقد أثبتت هذه الدراسة مقدرة HCAb المعطاة عن طريق الفم على حمايـة الفئران المصابة من خلال تقليص الوفيات, إطالة معدل الحياه في المجاميع, بالإضـافة إلـى تقليص أعداد البكتيريا في الدم و الكبد و الطحال للفئران المصابة. وقد اظهرت نتائج الدراسة أن نجاح العلاج بهذا النوع من المناعة السلبيه يعتمد على عدة أمور منهـا:مقـدار الجرعـة المعطاة من الأجسام المضادة و الوقت الذي يفصل بين الإصابة وبين إعطاء العلاج. بالإضافة لنوع هذه الأجسام المضادة وطريقة إعطائها.

Abstract

The Role of Milk of Immunized Camel (Camelus dromedarius) in Protecting Mice Against Oral Infection with Salmonella typhimurium

By

Iqbal Qatananni

Supervisor

Dr. Khaled Mahmood Al-Qaoud

Camel immune system produces a unique type of antibodies in addition to their conventional ones. The non-conventional antibodies are devoid of the light chain and the first constant heavy domain but are still fully functional. These heavy chain antibodies (HCAbs) are small and have the capability to resist heat and extreme pH that enable them to retain their activity as they pass through the gastrointestinal tract, rendering them convenient for in oral immunotherapy. This study investigated the protective effect of antibodies secreted in camel milk against *Salmonella typhimurium* (*S. typhimurium*) and its potential use in oral immunotherapy to protect BALB/c mice against salmonellosis. Skimmed milk of *Salmonella* immunized camel was decaseined by renneting and concentrated as 2.5 x and 7.5 x then were used in 2 separate experiments with the goal of testing the effect of antibody dose. Mice infected with the lethal dose of *S. typhimurium* showed a mean survival days (MSD) of 6.5 ± 6.7 and 2.2 ± 0.98 days for two experiments at 2.5x and 7.5x milk concentratessss respectively. Using the 2.5x concentrated camel milk the MSD were increased to 12.2

± 6.3 days when the bacteria and milk antibodies were mixed before inoculation (premix). Moreover, a 7.5 milk concentrate increased the MSD to 13.2 ± 2.0 days which was achieved when the milk containing antibodies was given to mice at the time of bacterial inoculation (simultaneously). The dissemination of bacteria to internal organs through the blood was successively reduced in treated mice. The mean colony forming units (CFU) in the blood of infected mice was $4.0\times10^{3}\pm5.5\times10^{3}$ CFU in the first day of infection which was completely absent in a premix treated mice (2.5x). However, 66.7 ± 163.3 CFU were found in the blood of mice treated with 7.5x antibody concentrate and infected, simultaneously. Livers and spleens were highly infested with *Salmonella* at the time of mice death for experiment 1 ($1.5\times10^{6}\pm1.2\times10^{6}$CFU for both organs). Such numbers were reduced to $1.7\times10^{5}\pm3.7\times10^{5}$ CFU for both organs in a premix treated group. In experiment 2 the number of CFU in the livers was reduced from $1.3\times10^{6} \pm 5.8\times10^{5}$ of infected untreated mice to $1.3\times10^{4} \pm 2.9\times10^{4}$ in group treated and infected simultaneously. In the same group the treatment reduced the number of CFU in spleens from $1\times10^{6}\pm8.1\times10^{5}$ in infected untreated to $4.7\times10^{3} \pm 1.1\times10^{4}$ CFU. This study proved for the first time the ability of orally administered camel antibodies derived from milk to prevent *S. typhimurium* infection and reduces dissemination in BALB/c mice. Furthermore, our result showed that the success of passive immunization depends on many factor such the dose and the time between exposure and the start of treatment. Elucidation of the antibody isotype responsible for the protection of mice needs further investigations.

List of Abbreviation

AIDS	Acquired Immunodeficiency Syndrome
BSA	Bovine Serum Albumin
CDRs	Complementary Determining Regions
CEA	Carcino Embryonic Antigen
CH_2	Constant Heavy Chain domain
Fabs	Antigen binding fragment of antibody
Fc	Fragment crystallizable
FR_2	Second Framework
HCAbs	Heavy Chain Antibodies
HEL	Hen-Egg Lysozyme
hPSA	human Prostate-Specific Antigen
HRP	Horse Radish Peroxidase
LPS	Lipopolysaccharide
mAbs	Monoclonal Antibodies
MW	Molecular weight
N. meningitidis	*Neisseria meningitides*
PBS	Phosphate Buffer Saline
PMN	Polymorphonuclear
PP	Payer's Patches
ROS	Reactive Oxygen Species
RT	Room temperature
scFv	Single chain Fragment of variable domains
SDS-PAGE	Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electropheresis.
SS agar	*Salmonella Shigella* agar
VHH	Variable heavy chain domain
VL	Variable light chain

الرسالة ناقصة من المصدر